

Penelitian

PEMBERIAN VITAMIN E TERHADAP *FRAGILITAS ERITROSIT* PADA MENCIT (*Mus musculus*, L.) YANG DIPAPARI TUAK

Noradina; Aureliya Hutagaol; Yafrinal Siregar

Prodi D-III Keperawatan, STIKes Imelda, Jalan Bilal Nomor 52 Medan;

Prodi S1/D-III Keperawatan, STIKes Imelda, Jalan Bilal Nomor 52 Medan

E-mail: dinanora74@gmail.com; aureliyanovita@gmail.com; yafrinalsiregar@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada pengaruh pemberian vitamin E terhadap penurunan fragilitas osmotik dan krenasi eritrosit mencit (*Mus musculus*, L.) jantan dewasa yang dipapari tuak. Apakah pengaruh radikal bebas yang ditimbulkan pemberian tuak yang mengandung alkohol dapat ditangkal dengan pemberian vitamin E sebagai antioksidan. pada kondisi stress oksidatif, radikal bebas akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel dan merusak organisasi membran sel. Penelitian ini menggunakan mencit jantan dewasa (*Mus musculus*, L.) sebanyak 30 ekor yang dibagi dalam 6 kelompok perlakuan. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif yang diberi dengan air aquades 0,5cc selama 30 hari, kelompok kedua diberi tuak yang terdapat kandungan alkohol 20% sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral 15 hari pertama dan dilanjutkan dengan pemberian aquades 0,5 ml/hari/ekor/oral 15 hari berikutnya, kelompok ketiga diberi tuak yang terdapat kandungan alkohol 20% sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral selama 30 hari, kelompok 4 diberi tuak yang terdapat kandungan alkohol 20% sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral selama 15 hari kemudian 15 hari berikutnya dilanjutkan dengan pemberian vitamin E 0,25mg/gBB/h, kelompok 5 diberi tuak yang terdapat kandungan alkohol 20% sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral selama 15 hari kemudian 15 hari berikutnya tetap diberi tuak yang terdapat kandungan alkohol 20% sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral yang diselingi waktu 1 jam dengan pemberian vitamin E 0,25mg/gBB/h, dan kelompok ke 6 diberi tuak yang terdapat kandungan alkohol 20% sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral yang di selingi dengan waktu 1 jam dilanjutkan dengan pemberian vitamin E 0,25mg/gBB/oral selama 30 hari. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari komite etik penelitian USU.

Kata kunci: Tuak, Alkohol, Fragilitas Osmotik Eritrosit, Vitamin E, Mencit Jantan.

PENDAHULUAN

Tuak merupakan hasil sadapan yang diambil dari mayang enau atau aren (*Arenga pinnata*) sejenis minuman yang merupakan hasil fermentasi dari bahan minuman/buah yang mengandung gula. Tuak telah dikenal di Indonesia sejak zaman dahulu dan mengandung alkohol (etil alkohol), sehingga jika diminum terlalu banyak dapat menyebabkan mabuk (Ikegami, 1992). Alkohol juga terlibat sebagai penyebab dari beberapa sindroma hemolitik, beberapa di

antaranya berkaitan dengan hiperlipidemia dan penyakit hati yang parah (Masters, 2002).

Menurut Lailanita (2002), minuman beralkohol dapat menyebabkan *fragilitas* eritrosit. *Fragilitas* eritrosit merupakan reaksi membran eritrosit untuk melawan tekanan osmosis media di sekelilingnya, untuk mengetahui berapa besar fragilitas atau daya tegang dinding eritrosit dapat diketahui dengan menaruh eritrosit dalam berbagai larutan (biasanya NaCl) dengan tekanan osmosis yang beragam. Konsentrasi larutan dengan tekanan osmosis tertentu akan memecah eritrosit, inilah yang menunjukkan

fragilitas eritrosit tersebut. Darah mengandung berjuta-juta eritrosit yang umurnya tidak sama (Senturk et.al, 2005).

Hemolisis adalah pecahnya membran eritrosit, sehingga hemoglobin bebas ke dalam medium sekelilingnya (plasma). Kerusakan membran eritrosit dapat disebabkan oleh antara lain penambahan larutan hipotonis, hipertonis dalam darah, penurunan tekanan permukaan membran eritrosit, zat/unsur kimia tertentu, pemanasan dan pendinginan, rapuh karena ketuaan dalam sirkulasi darah dan lain-lain. Apabila medium di sekitar eritrosit menjadi hipotonis (karena penambahan larutan NaCl *hipotonis*) medium tersebut (plasma dan larutan NaCl) akan masuk ke dalam eritrosit melalui membran yang bersifat *semipermeabel* dan menyebabkan sel eritrosit menggembung (Masters, 2002).

Aktivitas zat radikal bebas dalam tubuh bisa dicegah oleh zat antioksidan, yang berfungsi menghentikan aktivitas radikal bebas dan melindungi sel yang sehat dari kerusakan. Vitamin E merupakan suatu zat penyapu radikal bebas lipofilik dan antioksidan paling banyak di alam. Vitamin E berada di dalam lapisan *fosfolipid* membran sel dan berfungsi melindungi asam lemak jenuh ganda dan komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas dengan memutuskan rantai *peroksidase lipid* dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas, sehingga terbentuk radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak (Suhartono, et.al., 2007).

Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum: untuk membuktikan bahwa vitamin E dapat menurunkan *fragilitas osmotik eritrosit* mencit yang dipapari tuak.
2. Tujuan Khusus:
 - a. Untuk mengetahui kemampuan vitamin E dalam menurunkan *fragilitas osmotik eritrosit*, hemolisis dan krenasi (keriput) mencit yang dipapari tuak;

- b. Untuk mengetahui besarnya dosis vitamin E dapat menurunkan *fragilitas osmotik eritrosit*, hemolisis dan krenasi (keriput) eritrosit mencit yang dipapari tuak.
3. Hipotesa Penelitian:
Peneliti melakukan Hipotesa:
 - a) Terdapat pengaruh pemberian vitamin E terhadap penurunan *fragilitas osmotik eritrosit* mencit yang dipapari tuak;
 - b) Terdapat pengaruh pemberian vitamin E terhadap penurunan *hemolisis eritrosit* mencit yang dipapari tuak.

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah bagi ilmu kedokteran untuk mencegah terjadinya hemolisis yang disebabkan oleh penambahan larutan hipotonis, hipertonis dalam darah, penurunan tekanan permukaan membran eritrosit, zat/unsur kimia tertentu, pemanasan dan pendinginan, rapuh karena ketuaan dalam sirkulasi darah terutama karena radikal bebas.

METODE

Tempat dan Waktu

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi dan Biokimia USU Medan, Sumatera Utara. Penelitian ini dilakukan pada Bulan Mei – Juli 2017.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan rancangan eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Mencit jantan (*Mus musculus*, *L*) strain DD Webster dewasa, sebanyak 30 ekor, dengan menggunakan rumus penghitungan Frederer (Frederer, 1963) yaitu: $(t-1)(n-1) \geq 15$. Dimana: *t* adalah jumlah perlakuan (dalam penelitian ini ada 6 kelompok perlakuan) dan *n* adalah jumlah ulangan perkelompok, maka jumlah *n* yang diharapkan secara teoritis adalah 5 (6-1), sehingga jumlah keseluruhan hewan coba yang diperlukan dalam penelitian ini adalah 30 ekor mencit jantan dewasa yang dipilih dari hasil perbanyakan untuk

keperluan penelitian. Mencit ditempatkan ke dalam kelompok secara random.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan Penelitian

Hewan coba yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan (*Mus musculus*, L) strain DD Webster dewasa sehat yang berumur 8 - 11 minggu dengan berat 20-35 gram. Mencit jantan dewasa merupakan hasil pengembangan hewan yang diperoleh dari Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Biologi Universitas Sumatera Utara Medan, sebanyak 30 ekor mencit jantan dewasa yang dipilih dari hasil perbanyakan untuk keperluan penelitian. Bahan Kimia yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah, antara lain: Sediaan Vitamin E murni (Merck), NaCl fisiologis, NaCl 3 %, NaCl 0,9 % larutan ureum 1,8 % dalam NaCl 0,9 %, larutan ureum 1,8 % dalam aquades ,antikoagulans (EDTA).

Alat-alat Penelitian

Alat utama yang dipergunakan dalam penelitian ini, antara lain: Jarum oval (Gavage), spuit 1 ml, bak bedah dan *dissecting set*, gelas arloji, timbangan, *vertex mixer*, labu ukur, labu Erlen Meyer, buret, objek glas, mikroskop cahaya, tabung reaksi beserta raknya.

Air Tuak dan Penghitungan Kadar Alkohol

Air tuak didapat dari daerah Pancurbatu dengan cara mengambil air nira dari pohon aren. Ada 4 (empat) air tuak yang diambil untuk menentukan kadar alkoholnya yaitu: nira aren asli, nira ditambah raru (*Rapistrum rugosum* L), tuak asli, tuak yang siap dipasarkan, masing-masing sebanyak 2 liter. Kemudian dibawa ke Laboratorium Biokimia/Kimia Bahan Makanan Universitas Sumatera Utara untuk ditentukan kadar alkohol yang dikandungnya.

Variabel Penelitian

1. Variabel Independen: 1) Tuak (alkohol 20%); 2) Vitamin E (Merck).
2. Variabel Dependen: 1) Fragilitas osmotik eritrosit; 2) Hemolisis dan krenasi (keriput).

Pelaksanaan Penelitian dan Pengamatan

Pelaksanaan Penelitian

Mencit ditempatkan di dalam kandang yang terbuat dari bahan plastik dengan ukuran 30 x 20 x 10 cm yang ditutup dibagian atasnya dengan kawat kasa. Dasar kandang dilapisi dengan sekam padi setebal 0,5 s.d 1 cm dan diganti setiap 3 hari. Cahaya ruangan dikontrol persis 12 jam terang (pukul 06.00 s.d 18.00 wib) dan 12 jam gelap (pukul 18.00 s.d 06.00 wib). Pakan (pelet komersial) dan minuman air leiding/aquades disuplai setiap hari.

Etika Penggunaan

Penggunaan dan penanganan hewan di laboratorium penelitian dilakukan dengan aturan etika penelitian hewan. Penelitian hewan yang diatur dalam Deklarasi Helsinki untuk memperoleh "*ethical clearance*" dari komite etika dan komite ilmiah penelitian STIKes Imelda Medan, Sumatera Utara Medan.

Pemberian Perlakuan

Penelitian ini terdiri atas 6 kelompok perlakuan, yaitu: 1) Kelompok 1 (K0) = Kelompok kontrol pertama, terdiri dari 5 ekor mencit jantan dewasa tanpa perlakuan selama 30 hari; 2) Kelompok 2 (P1) = Kelompok perlakuan pertama, terdiri dari 5 ekor mencit jantan dewasa yang diberi tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral setiap hari selama 15 hari pertama dan 15 hari berikutnya pemberian tuak dihentikan dan diganti dengan pemberian aquades 0,5 ml secara oral; 3) Kelompok 3 (P2) = Kelompok perlakuan kedua, terdiri dari 5 ekor mencit jantan dewasa yang diberi tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral selama 30 hari; 4) Kelompok 4 (P3) = Kelompok perlakuan ketiga, terdiri dari 5 ekor mencit

jantan dewasa yang diberi tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral selama 15 hari pertama dan 15 hari berikutnya tuak dihentikan dan diganti dengan pemberian vitamin E sebanyak 25 mg/hari/ekor secara oral; 5) Kelompok 5 (P4) = Kelompok perlakuan keempat, terdiri dari 5 ekor mencit jantan dewasa yang diberi tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral selama

15 hari pertama dan 15 hari berikutnya pemberian tuak dengan pemberian vitamin E sebanyak 25 mg/hari/ekor secara oral; 6) Kelompok 6 (P5) = Kelompok perlakuan kelima, terdiri dari 5 ekor mencit jantan dewasa yang diberi tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor secara oral dan pemberian vitamin E sebanyak 25 mg/hari/ekor secara oral selama 30 hari.

Tabel 1: Desain Perlakuan

P5	Tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor + vitamin E sebanyak 25 mg, secara oral	Tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor + vitamin E sebanyak 25 mg, secara oral
P4	Tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor, secara oral	Tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor, secara oral + vitamin E sebanyak 25 mg/hari/ekor secara oral
P3	Tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor, secara oral	Vitamin E sebanyak 25 mg/hari/ekor secara oral
P2	Tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor, secara oral	Tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor, secara oral
P1	Tuak (alkohol 20%) sebanyak 0,5 ml/hari/ekor, secara oral	Aquades sebanyak 0,5 ml/hari/ekor
K0	Tanpa perlakuan	Tanpa perlakuan
0		6 bulan
		12 bulan

Prosedur Pemeriksaan dan Pengamatan

Setelah perlakuan selama 12 bulan, masing-masing hewan percobaan dikorbankan dengan cara dislokasi leher, selanjutnya dibedah dan pengambilan sampel dara, kemudian dilakukan pengamatan sebagai berikut:

1. Test fragilitas: Diambil 6 buah tabung reaksi yang bersih lalu diberi kanta penomoran yaitu nomor 1 sampai 6, kemudian dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi tersebut larutan NaCl 5% sebanyak 0.8; 0.7; 0.6; 0.5; 0.4; dan 0.3 ml dengan memakai pipet hisap kap. 1 ml.3., lalu aquadest ditambahkan ke masing-masing tabung reaksi 4.2; 4.3; 4.4; 4.5; 4.6; dan 4.7 ml yang menggunakan pipet hisap kap. 5 ml, sehingga volume larutan dalam tiap tabung masing-masing menjadi 5 ml. Selanjutnya dihomogenkan sehingga

tercampur dengan baik, kemudian ditempatkan di rak tabung. kadar NaCl dalam tiap tabung dihitung. Selanjutnya meneteskan darah mencit sebanyak 3 tetes ke dalam setiap tabung yang menggunakan pipet kap. 1 ml atau pipet dropping. Lalu dihomogenkan sehingga tercampur dengan baik, tempatkan di rak tabung (jangan sampai terjadi goncangan pada tabung) ditunggu sampai 1 jam, untuk mengamati pada lapis atas di setiap tabung. Jika ditemukan pada tabung no. 1 lrt. Tampak 2 lapis, dimana lapis atas berwarna jernih (ini berarti darah tidak mengalami pecah membran/tidak hemolisis). Selanjutnya diamati pada tabung mana yang lapis atas mulai berwarna merah (disinilah mulai terjadinya pecah membran = titik fragilitas eritrosit). Bila pada tabung no. 6 terjadi hemolisis total maka ditandai

warna merah transparan pada semua bagian, selanjutnya tentukan kadar fragilitas eritrosit (Dharmawan, 2002).

2. Hemolisis dan keriput: Diambil 3 tabung reaksi lalu dibuat label A, B, dan C, masing-masing tuangi 0,5 ml darah mencit kemudian tambahkan pada tabung B: 3 ml NaCl 3 %; C 3 ml aquades, homogenkan hingga tercampur rata (perhatikan warna darah sekarang) dan tabung A dibiarkan sebagai kontrol, tuangkan dari tabung A, B, dan C masing-masing 1 ml. ke dalam 3 buah gelas arloji, tempatkan di atas benda hitam (gelas arloji mana yang benda hitam tadi tampak). Selanjutnya tempatkan diatas benda putih (kertas yang ada tulisannya), perhatikan gelas arloji mana yang tulisannya bisa dibaca, masing-masing setetes contoh darah diambil dengan lidi dari gelas arloji tadi di atas gelas benda dan tutup dengan gelas cover. Lihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X, lalu perhatikan hasilnya (tidak ada eritrosit, keriput dan atau terlihat normal, dan gambar). Selanjutnya darah diambil dari tabung B 0,3 ml tempatkan di tabung reaksi yang baru (kosong), tambah dengan aquades 3 ml homogenkan, darah diambil dari tabung C, tempatkan pada tabung kosong 0,3 ml, tambah 3 ml NaCl 3%, homogenkan sehingga tercampur dengan baik, selanjutnya tempatkan di atas benda hitam dan putih, kemudian sediakan 2 tabung reaksi dengan label D dan E, masing-masing 0,3 ml darah lalu tabung D tambahkan 3 ml larutan ureum 1.6% dalam aquades dan tabung E ditambah 3 ml larutan ureum 1.6% dalam NaCl 0.9%.

Analisis Data dan Pengujian Hipotesis

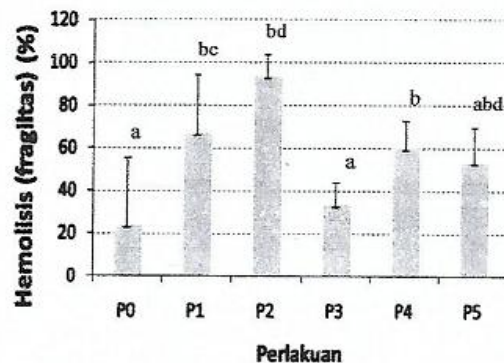
Semua data dipresentasikan dalam bentuk rata-rata \pm simpangan baku (rata-rata \pm SD). Dilakukan uji normalitas dan homogenitas dari hasil penelitian didapatkan data dengan distribusi normal dan homogen maka dilakukan uji parametrik Anova. Bila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan

dengan uji Post Hoc analisa Benferroni taraf 5% untuk melihat perbedaan antara kelompok kontrol dari masing-masing perlakuan. Jika distribusi data tidak normal dan tidak homogen maka dilakukan transformasi data. Kemudian diuji lagi normalitas dan homogenitas data. Apabila masih tidak normal distribusinya dan data tidak homogen maka dilakukan uji Mann Whitney untuk membandingkan antara 2 kelompok perlakuan (kontrol vs perlakuan). Pada kelompok data lebih dari 2 kelompok maka dilakukan uji Friedman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tekanan Osmotik Eritrosit (Test Fragilitas) atau Hemolisis karena Fragilitas Membran

Hasil rata-rata persentase darah yang mengalami hemolisis karena pengaruh *fragilitas Membran* dapat dilihat pada (lampiran). Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas data hemolisis karena *fragilitas*, maka didapatkan bahwa data tidak berdistribusi normal meskipun variasi data homogen. Setelah dilakukan transformasi data, maka data tetap berdistribusi tidak normal. Oleh sebab itu, data diuji dengan analisis non parametrik kruskal wallis, karena data bersifat independen dan lebih dari dua perlakuan. Hasilnya menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antar perlakuan dalam penelitian (P0, P1, P2, P3, P4, dan P5). Sehingga dilakukan uji lanjut mann-whitney untuk melihat perbedaan masing-masing perlakuan penelitian. Hasilnya dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Tekanan *osmotik eritrosit* (Test *fragilitas*) atau *Hemolisis* karena *fragilitas Membran*.

Pada Gambar 1 di atas, hemolisis yang disebabkan fragilitas membran berbeda antara satu perlakuan dengan perlakuan lain. Hemolisis yang paling tinggi terjadi pada P2 ($93,33 \pm 10,33\%$), berbeda tidak nyata dengan P1 ($66,67 \pm 27,33\%$), P4 ($60,00 \pm 12,65\%$) dan P5 ($53,33 \pm 16,33\%$) tetapi berbeda nyata dengan P3 ($33,33 \pm 10,33\%$) dan P0 ($23,33 \pm 32,04\%$) ini terjadi kemungkinan karena pengaruh tuak yang didalamnya terkandung alkohol, sehingga menimbulkan gangguan struktur membran sel eritrosit terdiri dari lipid bilayer dan ditemukan protein integral yang berfungsi sebagai protein channel atau pore bagi ion-ion yang dibutuhkan oleh sel eritrosit. Seperti yang dinyatakan Lailannita (2002), minuman beralkohol dapat menyebabkan *fragilitas osmotik eritrosit* sebagian besar tersusun atas lemak.

Persentase hemolisis terendah akibat konsumsi tuak pada mencit didapatkan pada P ($23,33 \pm 32,04\%$) yang berbeda tidak nyata dengan P3 ($33,33 \pm 10,33\%$) dan P5 ($53,33 \pm 16,33\%$), tetapi berbeda nyata dengan P1 ($66,67 \pm 27,33\%$), P2 ($93,33 \pm 10,33\%$), dan P4 ($60,00 \pm 12,65\%$). Kemungkinan hal ini terjadi karena mencit hanya menerima asupan aquadest selama 30 hari (tanpa penambahan tuak). Meskipun terjadi hemolisis, tetapi persentasenya tidak mengakibatkan kelainan fisiologis dari mencit atau gangguan kesehatan pada mencit. Hasil ini tidak

berbeda nyata dengan P3 atau asupan tuak (20% alkohol) selama 15 hari pertama dan hari ke 16 berikutnya diberikan vitamin E (25mg) sampai 30 hari. Keadaan ini membuktikan adanya pengaruh kuartif atau terapi dari vitamin E pada eritrosit mencit sehingga adanya penurunan persentase hemolisis yang terjadi yaitu dari $93,33 \pm 10,33\%$ pada P2 menjadi $33,33 \pm 10,33\%$ pada P3. Kemungkinan hal ini terjadi karena adanya kandungan alkohol pada tuak dapat ditekan atau terjadi penekanan aktivitas peroksidasi lipid pada membran sel eritrosit. Seperti pernyataan Wahyuningsih (2009), bahwa vitamin E memiliki kemampuan untuk menghentikan peroksidasi lipid dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogennya dari gugus OH kepada lipid peroksil yang bersifat radikal sehingga menjadi vitamin E yang kurang reaktif dan tidak merusak. Oleh karena membran sel eritrosit kaya akan lipid yang peka terhadap serangan radikal bebas yang disebabkan oleh alkohol dalam tuak, maka yang lebih berperan untuk meminimalisir dampak dari (ROS) *Reactive Oxygen System* adalah vitamin E.

Hal ini sesuai dengan pendapat Indera *et.al.*, (2006), bahwa ROS dapat mengakibatkan oksidasi pada biomakromolekul penyusun membran eritrosit dan begitu juga Suhartono *et.al* (2007) yang menyebutkan radikal bebas dapat mengganggu integritas sel dan dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel, baik komponen struktural (molekul-molekul penyusun membran) maupun komponen fungsional (protein, enzim-enzim, DNA) dengan merusak sel pada komponen protein, DNA dan membran sel (*poly unsaturated fatty acids*), sehingga membran selnya rusak dan menyebabkan gangguan pada integritas sel. Pemberian tuak yang terlalu lama menyebabkan peningkatan persentase hemolisis akibat fragilitas membran eritrosit.

Seperti yang terlihat pada P4 ($60,00 \pm 12,65\%$), dimana tuak diberikan selama 30 hari pada mencit dan berbeda tidak nyata dengan P5 ($53,33 \pm 16,33\%$). Kemungkinan karena akumulasi alkohol

dalam tuak yang terlalu banyak dan umur eritrosit yang bertambah sesuai dengan lamanya pemberian tuak (30 hari). Kemudian juga, lama pemberian tuak telah melebihi siklus atau waktu paruh eritrosit dalam tubuh mencit, sehingga penggantian eritrosit terganggu karena adanya tuak yang diberikan. Seperti hasil penelitian Evans (2000), yang menunjukkan bahwa umur eritrosit sangat berpengaruh terhadap daya fragilitasnya. Dalam uji fragilitas darah di laboratorium mulai terjadinya hemolisis awal (initial hemolisis) ditentukan sebagai titik awal fragilitas eritrosit, sedangkan apabila semua sel eritrosit mengalami lisis (total hemolisis) ditentukan sebagai fragilitas total, ketahanan eritrosit untuk lisis dapat diukur dengan meningkatkan konsentrasi larutan NaCl. Ketahanan sel darah merah untuk lisis ini dipengaruhi oleh volume dari sel darah merah.

Hemolisis karena Keriput (Krenasi)

Rata-rata data hemolisis karena pengaruh krenasi (keriput) dapat dilihat pada Lampiran 4 halaman 62 Data hemolisis (krenasi) merupakan data ordinal (peringkat atau kategorik), sehingga data dapat langsung dianalisis dengan non parametrik kruskal Wallis (data independen dan lebih dari 2 perlakuan) (Lampiran 4 halaman 62). Hasilnya menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata ($p < 0,05$; lampiran 4 halaman 64) antara berbagai perlakuan dalam penelitian (P0, P1, P2, P3, P4, dan P5). Sehingga dilakukan uji lanjut Mann-Whitney untuk melihat perbedaan masing-masing perlakuan penelitian (Lampiran 4 halaman 65). Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Hemolisis karena Keriput (Krenasi).

Rata-rata hemolisis karena krenasi pada darah Mencit Jantan Dewasa. Grafik histogram pada perlakuan berbeda yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata pada taraf uji 5%. P0= aquadest 30 hari; P1=tuak (20%) selama 15 hari, selanjutnya aquadest sampai 30 hari; P3=tuak (20%) 15 hari, selanjutnya vitamin E (25mg) sampai 30 hari; P4= tuak (20%) 30 hari, vitamin E (25mg) dari hari ke 16 sampai 30 hari. P5= Tuak (20%) dan vitamin E selama 30 hari.

Pada Gambar 2 di atas, hemolisis yang disebabkan oleh krenasi (pengkerutan) berbeda antara satu perlakuan dengan perlakuan lain. Hemolisis yang paling tinggi terjadi pada P2 ($2,9 \pm 0,04$), berbeda nyata dengan P0 ($1,9 \pm 0,00$) dan P3 ($1,7 \pm 0,06$), P4 ($2,2 \pm 0,21$) dan P5 ($2,0 \pm 0,12$). Kemungkinan ini terjadi karena pengaruh alkohol di dalam tuak yang dapat menimbulkan gangguan susunan kimiawi membran dari eritrosit mencit. Akumulasi kandungan alkohol akibat konsumsi tuak berlebihan dapat menyebabkan tingginya tekanan (hipertonis) di dalam cairan darah sehingga dapat menyebabkan keriputnya sel darah merah mencit. Seperti yang dinyatakan Senturk *et.al.*, (2005), bahwa bila eritrosit berada pada medium yang hipertonis, maka cairan eritrosit akan keluar menuju ke medium luar eritrosit (plasma), akibatnya eritrosit akan keriput (krenasi). Keriput ini dapat dikembalikan dengan cara menambahkan cairan isotonis ke dalam medium luar eritrosit.

Hemolisis karena krenasi darah yang terkecil didapatkan pada perlakuan P3 ($1,7 \pm 0,06$) yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya P0 ($1,9 \pm 0,10$), P1 ($1,9 \pm 0,00$), P2 ($2,9 \pm 0,040$), P4 ($1,7 \pm 0,06$), DAN P5 ($2,0 \pm 0,12$). Kemungkinan karena pemberian tuak yang hanya 15 hari dan kemudian penambahan vitamin E selanjutnya sampai 30 hari, dapat menekan efek radikal bebas alkohol (kandungan tuak) sehingga terjadi peroksidasi lemak. Menurut Juwita (2009), penelitian mengenai karetenoid dan vitamin E menunjukkan bahwa kedua zat tersebut dapat berfungsi mencegah peroksidasi lemak. Mekanisme tersebut terjadi dengan cara menonaktifkan radikal oksigen yang timbul.

Terjadinya stres oksidatif di dalam tubuh, akan terbentuk radikal bebas berikutnya. Apabila radikal bebas yang bersifat reaktif tidak dihentikan maka akan merusak membran sel eritrosit dan terjadi peroksidasi lipid. Adanya peroksidasi lipid membran sel memudahkan sel eritrosit mengalami hemolisis yang menyebabkan hemoglobin terbebas, sehingga jumlah hemoglobin semakin berkurang (Indera *et.al.*, 2006). Vitamin E berada di dalam lapisan fosfolipid membran sel dan berfungsi melindungi asam lemak jenuh ganda dan komponen membran sel lain dari oksidasi radikal bebas dengan memutuskan rantai peroksidasi lipid dengan cara menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas, vitamin E berfungsi sebagai pelindung terhadap peroksidasi lipid di dalam membran (Suhartono, *et.al.*, 2007).

Komposisi molekuler eritrosit lebih dari setengahnya terdiri atas air (60%) dan sisanya berbentuk substansi padat. Keseluruhan isi eritrosit merupakan substansi koloid yang homogen, sehingga sel bersifat elastis dan lunak. Radikal bebas hanya berdampak pada asam lemak terutama pada membran yang kaya fosfolipid sebagai asam lemak tak jenuh dan juga protein yang dikenal sebagai peroksidasi lipid yang menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa yang bersifat toksik terhadap sel. ROS dapat mengakibatkan oksidasi pada

biomakromolekul penyusun membran eritrosit (Indera *et.al.*, 2006).

KESIMPULAN

Pada penelitian ini ditemukan bahwa dengan pemberian tuak yang terdapat alkohol sebanyak 20% 0,5ml/hr/ekor, akan menyebabkan kecenderungan terjadinya hemolisis darah, baik melalui *fragilitas osmotik eritrosit* maupun *krenasi*. Hal ini disebabkan karena tuak yang dipasarkan dimasyarakat terdapat kandungan kadar alkohol 20% dapat menyebabkan terjadinya gangguan hematologi. Namun pada penelitian ini terbukti bahwa dengan pemberian Vitamin E 0,25mg/gBB/hr/oral ditemukan penurunan *fragilitas dan krenasi eritrosit*.

SARAN

Untuk mencegah terjadinya peningkatan hemolisis darah baik melalui *fragilitas dan krenasi eritrosit* akibat radikal bebas maka perlu asupan antioksidan yang memadai dalam tubuh dan diharapkan pada peneliti selanjutnya agar menambahkan dosis pemberian Vitamin E dengan waktu yang berbeda.

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Kemenristekdikti yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mendapatkan hibah dosen peneliti pemula di tahun 2016 – 2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S & Rezale A. (2004). *Pesticides and Oxidative Stress: a review*. Med sci.monit 10(6): 141-147.
- Almaster, S. (2004). *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Arief S. (2008). *Radikal Bebas*. Bagian Ilmu Kesehatan Anak Surabaya. On line at <http://www.pediatrik.com/buletin/06224113752-x0zu6l.pdf> [accessed 2 Februari 2008].

- Chandrasoma, P dan Taylor, C. R. (2005). *Ringkasan Patologi Anatomi*. Jakarta: EGC.
- Fleming, M., S. J. Mihic, dan R. A. Harris. (2007). *Etanol Dasar Farmakologi Terapi*. Jakarta: EGC.
- Gunawan, S. G. (2008). *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: FKUI.
- Guyton & Hall. (1997). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Terjemahan: Setiawan Irawati, Edisi Kesembilan. Jakarta: EGC.
- Hariyatmi. (2004). *Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Lanjut Usia*. Jurnal MIPA. 14 (1): 52 – 60.
- Huang H., Appel, L.J., Crot, K. D., Miller, E. R., Mori, T. A. & Puddley, I. B. (2002). *Effects of Vitamin C and E On In Vivo Lipid Peroxidation: Results Of Randomized Controlled Trial*. Am J Clin Nutr, 76, 549-555.
- Kay I. (2002). *Pengantar Fisiologi Hewan*. Terjemahan: Isnaeni W. Semarang: Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, UNNES..
- Laurance dan Bachrach. (1964). *Azas Umum Uji Toksikologi dalam Petunjuk Praktikum Toksikologi*. Editor imono Agro Donatus. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi UGM, Hal.32.
- Lautan J. (1997). *Radikal Bebas pada Eritrosit dan Lekosit*. Kopertis Wilayah-I dpk Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sumatera Utara. Medan: Cermin Dunia Kedokteran (116): 49-52.
- Marianti A & Wulan C. (2006). *Petunjuk Praktikum Fisiologi Hewan*. Semarang: Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNNES.
- Masters, S. B. (2002). *Farmakologi Dasar dan Klinik Katzung: Alkohol*. Jakarta: Salemba Medika.
- May J, Qu Z & Mendirata S. (1998). *Protection and Recycling of alfa-Tocopherol in Human Erythrocytes by Intra Cellular Ascorbic Acid*. Arch. Biochem. Biophys. 349(2): 281-289.
- Pavlovic V, Cekic S, Rankovic G & Stoilkovic N. (2005). *Antioxidant and Pro-oxidant Effect of Ascorbic Acid*. Acta Medica Medianae. 44 (1): 65-69.
- Srivastava A, Srivastava M & Raizada R. (2005). *Ninety Day Toxicity And One Generation Reproduction Study In Rats Exposed To Allethrin Based Liquid Mosquito Repellent*. Jurnal of Toxicological Sciences, 31 (1): 1-7.
- Sudjadi dan Rohman, A. (2008). *Analisis Kuantitatif Obat*. Yogyakarta: Gadjah Mada Universitas Press.
- Suhartono E, Fachir H & Setiawan B. (2007). *Kapita Sketsa Biokimia Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit*. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarmasin: Pustaka Banua.
- Syamsulina & Revianti. (2003). *Efek Proteksi Ekstrak Buah Merah (Pandanus Conoideus Lam) Terhadap Stres Oksidatif Di Eritrosit Rattus Norvegicus Galur Wistar Yang Terpapar Asap Rokok Kretek*. Penelitian Eksperimental Laboratories.